Detecção de interfaces intra-oculares por interferometria com fonte luz de baixa coerência

A. C. Oliveira e J. C. Castro
Grupo de Óptica Aplicada, Departamento de Física e Ciência dos Materiais,
Instituto de Física de São Carlos - USP,
Caixa Postal 369, 13560-970, São Carlos, SP, Brasil

Recebido em 30 de agosto, 1996

As medidas de pequenas distâncias através da interferometria com luz de baixa coerência têm se tornado uma potencial opção no estudo preciso das interfaces de elementos intra-oculares. Neste trabalho descrevemos um experimento para medida de espessura da córnea e cristalino em globo ocular de coelho. O procedimento utiliza basicamente um interferômetro de Michelson e os testes mostram um método que reúne três características importantes: alta resolução, fácil operacionalidade e custo razoável. Discute-se ainda a potencialidade do mesmo para obtenção de informação concernente à estrutura da retina.

The measure of short distances, by means of interferometry with low coheren light, has been a potential option to study the interface of the intra-ocular elements. In this work we describe a measurement device of cornea and crystalline lens thickness in ocular globe of the rabbit. The procedure uses basically a Michelson interferometer, so that the results prove an efficient method with important characteristics; high resolution, easy handling and reasonable cost. There is the potential possibility to use this method obtain information about the structure of the retina.

I. Introdução

O crescente interesse pelo conhecimento das medidas de distâncias intra-oculares está relacionado com os avanços na correção dos defeitos de refração do olho, quer sejam para o implante de lentes ou para outro tipo de cirurgia específica. Essas interfaces oculares são definidas pelos elementos intra-oculares: córnea, humor aquoso, cristalino, humor vítreo e retina, tal como mostra a figura 1[1]. 0 instrumento atualmente usado para estas medidas é o biômetro ultra-sônico, elaborado por Franken em 1961[2]. Ele funciona como uma espécie de sonar, emitindo pulsos sonoros de alta freqüência com a subsequente captação de seus ecos pelas interfaces intra-oculares. O lapso de tempo entre a emissão e a recepção do eco pode ser convertido em distancia, desde que se conheça a velocidade do som nos meios oculares. Embora os biômetros ultra-sônicos atuais sejam muito mais aperfeiçoados que os modelos anteriores, o método apresenta sérias limitações na resolução. Isto se deve ao fato da intensidade dos ecos ser inversamente proporcional à freqüência de sondagem. Desta forma, um aumento proposto na resolução e portanto na freqüência acarreta uma diminuição da intensidade do sinal de eco. Este problema é significativamente maior quanto maior for a profundidade sondada, visto que as ondas sonoras perdem sua intensidade ao penetrar nos tecidos mais profundos.

Uma variedade de técnicas diferentes tem sido experimentada nos últimos quinze anos, visando estabelecer processos mais eficientes e mais precisos. Uma alternativa é uso de pulsos curtos de laser, na faixa de 10^{-15} segundos. Esta técnica é conhecida como medida de tempo de vôo e, embora forneça resultados de grande precisão, apresenta problemas de alinhamento óptico e alto custo operacional[3]. Na atualidade a técnica mais promissora parece ser a técnica de interferometria com luz de baixa coerência. Ela reúne alta resolução, relativa facilidade de alinhamento e baixo custo. Além disto, requer apenas que as interfaces sondadas tenham maior efeito de reflexão do que de espalhamento, fator este comprovadamente observado nos experimentos até agora realizados. A técnica interferométrica de baixa coerência foi elaborada no início da década de 80 com os trabalhos de Fercher e Mengedoht e está sendo alvo de estudos para possível desenvolvimento de um instrumento prático e eficiente[4]. Dentro dos objetivos deste trabalho, apresentamos alguns resultados de experimentos efetuados com o uso desta técnica. Inovações e implementações foram acrescentadas ao método original apresentado por Fercher e colaboradores, visando seu desenvolvimento.

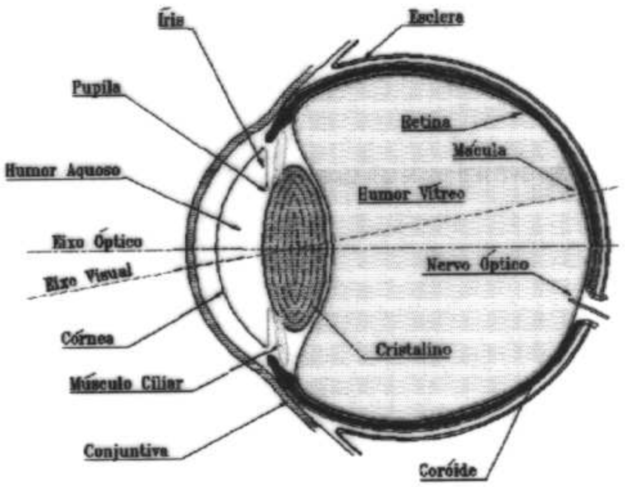

Figura 1: Globo ocular humano esquematizado. Em linhas gerais ele é bastante semelhante com o de mamíferos terrestres como o coelho.

II. Princípio de Funcionamento

Nossos experimentos foram realizados com um interferômetro de Michelson adaptado, conforme ilustra o diagrama da figura 2. Os dois feixes provenientes do prisma divisor de feixe são levados a passarem por um espelho semi-refletor, de onde o reflexo é feito incidir diretamente no fotodetector 2. A parte transmitida é focalizada no globo ocular sob teste e este, por sua vez, reflete os dois feixes para o fotodetector 1. Os fatores responsáveis pela reflexão de luz pelo olho são as interfaces de seus elementos intra-oculares. Cada uma dessas interfaces pode ser devido a estrutura normal do olho, córnea, cristalino e retina, ou devido a algum acidente anatômico interno. De um modo geral entretanto, todas elas funcionam como superfícies parcialmente refletoras e transmissoras, pelas próprias características naturais que Ihe conferem transparência. Tal fato pode ser ilustrado de forma analítica pela observação da figura 3. Essa figura considera apenas um corte longitudinal do olho, ou seja, um plano que contenha o eixo óptico do olho e ao mesmo tempo está limitado a uma dimensão apenas um pouco maior que o diametro dos feixes provenientes do interferômetro. Para facilitar o entendimento os feixes foram designados por 1 e 2, enquanto as interfaces por letras maiúsculas. Assim, a superfície externa da córnea é a interface A, enquanto sua superfície interna é a interface B. Analogamente temos interfaces para o cristalino, a retina e eventualmente pontos de degeneração orgânica capazes de definir outras interfaces tais como descolamentos de retina ou vítreo. A técnica interferométrica utiliza o baixo comprimento de coerência de algumas fontes de luz, como referência, para medida de pequenas distâncias. Num processo interferométrico, o comprimento de coerência da fonte de luz define a diferença máxima de caminho óptico entre feixes interferentes para a geração de franjas. Em outras palavras, a geração de franjas de interferência só ocorre quando os comprimentos de cada braço do interferômetro, diferenciam-se por uma distância máxima conhecida como comprimento de coerência. Numa análise teórica, podemos supor o uso de uma fonte de luz colimada com comprimento de coerência nulo. Neste caso, estando os espelhos M1 e M2 inicialmente posicionados de tal modo a que l1 seja igual a l2, os feixes que saem do prisma divisor e são levados a incidir no fotodetector 2 produzem franjas de interferência. Da mesma forma, figura 3, os feixes 1 e 2 refletidos em cada uma das interfaces A, B, C, ...,R, produzem franjas as quais são detectadas pelo fotodetector 1. Quando o espelho móvel M2 se desloca, fazendo com que l1 se diferencie de l2, as franjas desaparecem nos dois fotodetectores, visto que os feixes passam a percorrer caminhos ópticos diferentes. Entretanto, à medida que o espelho móvel M2 continua se deslocando, a diferença de caminho óptico entre o feixe 1 refletido pela interface A e o feixe 2 refletido pela interface B é anulada, determinando o aparecimento de franjas no fotodetector 1. Na seqüência de deslocamento de M2, essas franjas desaparecem e novas surgem quando a diferença de caminho óptico entre o feixe 1 refletido pela interface A e o feixe 2 refletido pela interface C for anulada e assim sucessivamente. Este procedimento permite então, determinar as distâncias entre os elementos intra-oculares ou suas dimensões características. Portanto, a idéia básica é corrigir a diferença de caminho óptico entre os feixes respectivamente refletidos por cada interface intra-ocular, considerando-se o índice de refração "n" dos meios percorridos pelos feixes de luz. Em conseqüência, o comprimento de coerência determina a precisão da medida efetuada.

O comprimento de coerência de uma fonte de luz é definido pela expressão[5]

$$L_\tau = \lambda^2/\Delta\lambda \; , \qquad (1)$$

onde L_τ representa o comprimento de coerência, λ o comprimento de onda do centro da banda e $\Delta\lambda$ a largura da meia altura de sua banda de emissão. Isso significa que o comprimento de coerência é inversamente proporcional à largura de banda da fonte em questão. As fontes de luz mais próximas da monocromaticidade perfeita são os lasers e isso em primeira análise os torna inúteis para esse tipo de experimento. Não obstante, alguns lasers semicondutores operam em vários modos de emissão definindo um envoltório eqüivalente a uma banda larga de emissão. Em última análise, isso os torna perfeitos para esse tipo de experimento, dada sua facilidade de colimação. Em nosso experimento fizemos uso do laser semicondutor LT022MS da SHARP cujas linhas de emissão podem ser vistas na figura 4. Operando em 0,5 mW, este laser possui $\Delta\lambda$ de aproximadamente 1,5 nm e λ = 779 nm, o que corresponde a um comprimento de coerência de aproximadamente 400 μm. Entretanto, quando em operação abaixo da região de *threshold*, o comprimento de coerência pode chegar a cerca de 30 μm.

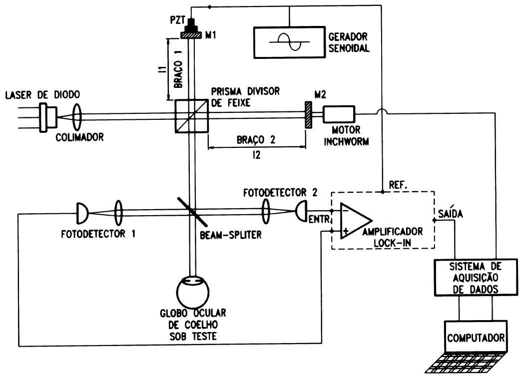

Figura 2: Interferômetro de Michelson, adaptado para detecção de interfaces intra-oculares. L1 e L2 são lentes colimadoras. l1 e l2 são, respectivamente, os comprimentos dos braços do interferômetro.

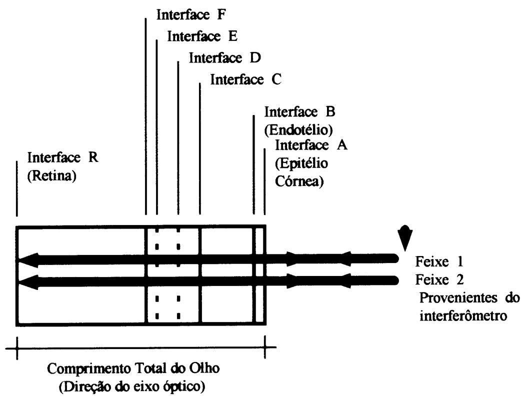

Figura 3: Plano ocular longitudinal contendo o eixo óptico. Dentro das dimensões dos feixes do laser incidente no olho, cada interface ocular pode ser bem aproximada por um segmento de reta. As principais interfaces são delimitadas pela córnea, cristalino e retina.

III. Material e Método

O material biológico para os testes foi obtido pela colaboração do banco de olhos do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto. Foram feitas medidas com globos oculares de coelhos, dentro das primeiras quatro horas de sacrifício do animal. A opção por estes animais foi feita tendo-se em conta a grande semelhança de sua biomecânica ocular com a dos seres humanos. A preservação por mais de quatro horas foi feita em câmara fria sob temperatura de aproximadamente 4°C. Foram realizadas também medidas em córneas humanas conservadas por oito dias após a doação, em líquido preservador.

Os componentes ópticos do interferômetro foram construídos em substratos de vidro óptico do tipo BK7 com planicidade de $\lambda/4$. O interferômetro foi montado numa base de ferro fundido em forma de bloco quadrado de 30 x 30 x 8 cm. Foi elaborado um suporte para acomodação do globo ocular de teste de modo que o conjunto permanece apoiado numa chapa de borracha fina sobre uma mesa de mármore, para evitar vibrações adicionais no sistema que pudessem comprometer os resultados das medidas.

IV. O Sistema Experimental

A base deslizante do sistema de deslocamento do espelho móvel M2 foi construída em torno e retífica de alta precisão. Para efetuar o deslocamento com alta precisão foi utilizado um motor piezoeléctrico. Este tipo de motor é também conhecido como motor minhoca inchworm". Quando em funcionamento, este motor faz deslocar linearmente um cilindro móvel. O conjunto é comercialmente produzido pela "Burleigh", e é bastante eficiente para o uso proposto. O cilindro móvel é acoplado à base deslizante que suporta o espelho M2. Com este sistema é possível movimentar o espelho em passos de até 4 nm. Este valor, entretanto, pode ser programado pelo computador que controla o "inchworm", permitindo medidas lentas ou rápidas. Tanto o controle do sinal registrado pelos fotodetectores, como o deslocamento do espelho móvel, são processados por um microcomputador do tipo PC486. Para tal, foi montada uma placa de interfaceamento para aquisição de dados, cujos detalhes fazem parte do trabalho de Tonissi[6]. O sistema funciona de modo que o computador envia pulsos para o motor e este promove uma seqüência de passos no deslocamento do espelho M2, por uma dada distância até parar. Neste momento a placa de aquisição coleta o sinal dos fotodetectores e o processa como amplitude de sinal em função da posição do espelho. Em seguida, o computador envia nova seqüência de pulsos, os quais promovem uma nova seqüência de passos deslocando o espelho por mais uma dada distância. Após uma pausa o sinal é medido novamente. O processo assim descrito continua até que toda a extensão programada tenha sido explorada pelo deslocamento total do espelho. Nosso sistema permite controlar o tamanho das seqüências de passos, variando de 1 até 3000 passos por seqüência.

V. Eletrônica de Detecção

O sistema fotodetector foi construído com um fotodiodo de silício do tipo UDT PIN 5D 159-1. Trata-se de um fotodiodo com área circular de $4mm^2$ com grande eficiência na região do vermelho e infravermelho próximo. As franjas produzidas pela interferência entre o feixe refletido pela superfície mais interna e o feixe refletido pela superfície mais externa do olho são por demais fracas para serem vistas. Torna-se então necessário amplificar o sinal detectado e para isto construímos um pré-amplificador, utilizando um amplificador operacional de precisão, o SH0032C, conforme o diagrama da figura 5. O conjunto todo foi montado numa caixa de alumínio frezada em bloco sólido, perfazendo uma espessura de um centímetro em suas paredes. Este cuidado diminui a possibilidade da indução de ruídos elétricos. Dois conjuntos semelhantes foram montados e utilizados com designações fotodetector 1 e fotodetector 2. A utilização de dois fotodetectores, conforme a disposição do esquema mostrado, tem como objetivo a diferenciação do sinal de fundo devido a iluminação transiente. O ganho destes sistemas foi fixado em 100 vezes, fornecendo um sinal de até 50 μV sob condição de sinal fraco. Para trabalhar com o sinal proveniente dos fotodetectores foi anexado um sistema de detecção síncrona com base num amplificador comercial do tipo LOCK-IN. O uso da detecção síncrona exige que o sinal detectado seja modulado em freqüência para que o sinal seja amplificado sem ruídos. Tal processo permite introduzir um fator de amplificação bastante alto, mesmo que a relação sinal-ruído seja baixa. Para utilizar o amplificador síncrono foi adaptado um cristal piezoeléctrico, "PZT", no espelho fixo M1 do interferômetro. Um gerador de audio foi ligado ao PZT, que ao mesmo tempo fornece o sinal de referência para o amplificador LOCK-IN. A freqüência do gerador de audio, neste caso, deve ser ajustada para que o sinal devido ao deslocamento das franjas pela vibração do PZT seja múltiplo do sinal de referência. Apenas nestas condições é possível manter o sincronismo entre o sinal de referência e o sinal de entrada para efetuar a amplificação síncrona. Obviamente, a freqüência de vibração do PZT em M1 deve ser maior que a freqüência de deslocamento do espelho M2 pelo motor linear, caso contrário, fica impossível ajustar a fase. O amplificador LOCK-IN utilizado possui dois canais de entrada com chaveamento para diferenciação dos sinais de entrada, no caso, provenientes dos dois fotodetectores.

VI. Resultados Experimentais

O comprimento de coerência do laser de diodo foi medido experimentalmente, utilizando a mesma montagem experimental da figura 2. Para este experimento, no local do globo ocular de teste foi colocado um espelho de alumínio com 100 % de reflexão, e o PZT do espelho M1 foi mantido sem sinal elétrico. Nessa situação, o sinal captado pelo fotodetector 1 foi diretamente aplicado ao sistema de aquisição de dados. O resultado obtido pode ser observado na figura 6. Esta medida foi feita com o laser operando bem abaixo da região de *threshold*, com 40,8 mA. O tempo de aquisição foi ajustado em 4 segundos, conforme se pode ver na graduação inferior do gráfico. O traço inferior indica o nível de ruído presente, dadas as condições de sensibilidade do fotodetector, iluminação residual presente no ambiente do laboratório e ruído intrínseco da instrumentação eletrônica utilizada no experimento. Conforme pode-se observar, o comprimento de coerência tem aproximadamente 30 μm, considerando a largura da meia altura. Com este comprimento de coerência as sondagens feitas a nível de córnea revelaram-se bastante precisas.

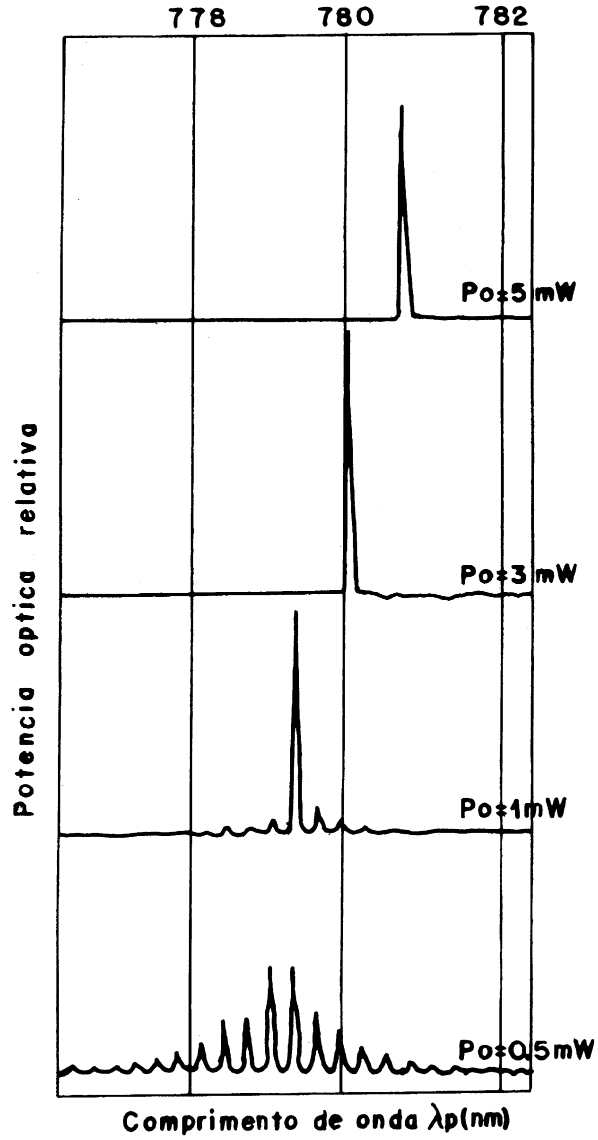

Figura 4: Espectros de emissão do laser semicondutor LTO22MS da SHARP, em funcão de sua potência de emissão.

A figura 7 mostra um exemplo típico dos traçados interferométricos obtidos na região da córnea em globo ocular de coelho. A escala horizontal inferior está graduada em função do deslocamento do espelho, enquanto a escala horizontal superior possui a graduação da espessura da córnea corrigida pelo seu índice de refração. Os dois grandes picos extremos representam as faces interna e externa da córnea. O fato mais notável nesta figura é o grande poder de resolução da técnica. O pequeno pico à direita, próximo à superfície externa, representa algum possível acidente anatômico da córnea, capaz de produzir uma reflexão. Estruturas bem detalhadas como estas não podem ser observadas com biometria ultra-sônica. É interessante atentar-se para o fato dos dois picos extremos apresentarem a mesma amplitude. Esta situação foi previamente imposta pelo ajuste adequado de ganho dos dois fotodetectores. Isto garantiu um sinal menos intenso após a diferenciação efetuada no LOCK-IN, para a posição inicial em que os braços do interferômetro possuem igual comprimento.

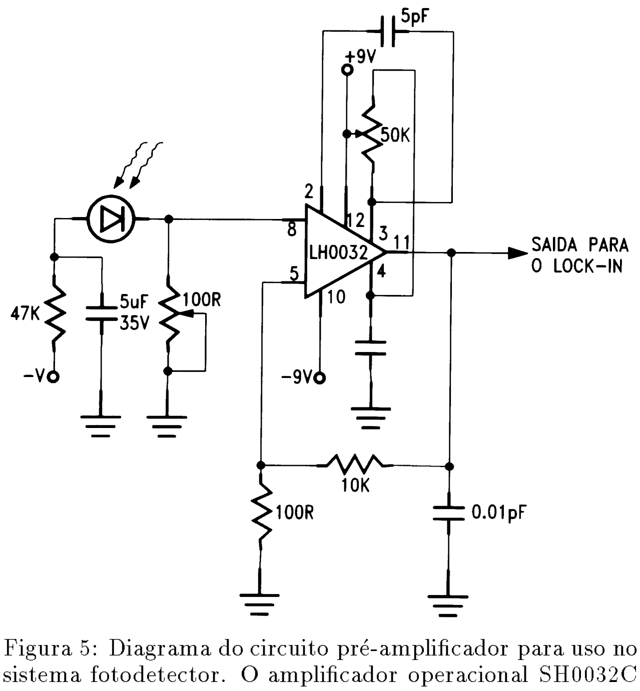

Figura 5: Diagrama do circuito pré-amplificador para uso no sistema fotodetector. O amplificador operacional SH0032C foi escolhido devido a sua eficiência para este tipo de aplicação.

Outro resultado interessante é o da figura 8, onde podemos observar o interferograma de uma córnea humana com oito dias de preservação. Neste caso, a córnea foi colocada numa cubeta rasa, em líquido preservador, devidamente adaptada ao chassi do interferômetro. Destaca-se nesta medida a grande atenuação do pico interferométrico correspondente à superfície interna da cómea. Uma atenuação como esta pode ser conseqüência da perda de vitalidade das células endoteliais, que ocorre inexoravelmente em longos tempos de preservação do tecido. Caso esta hipótese venha a confirmar-se nos próximos experimentos, estará aberto um novo campo de avaliação da vitalidade do endotélio corneano, talvez até mais eficiente que a microscopia especular.

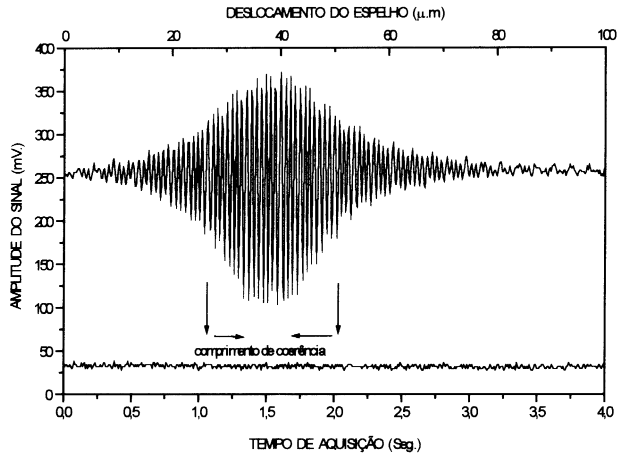

Figura 6: Interferograma correspondente ao comprimento de coerência do laser semicondutor LTO22PDO da Sharp, operando abaixo da região de *threshold* com 40,8 mA.

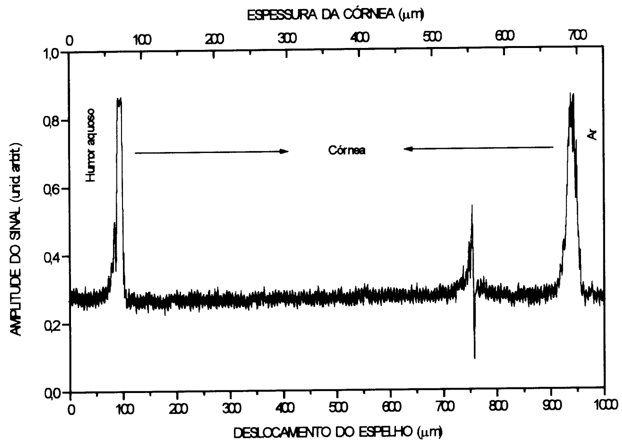

Figura 7: Interferograma da região de córnea no globo ocular de coelho, in-vitro, obtido 4 horas após o sacrifício. A escala horizontal superior é obtida dividindo a escala inferior pelo índice de refração da córnea, "n"= 1,37[7].

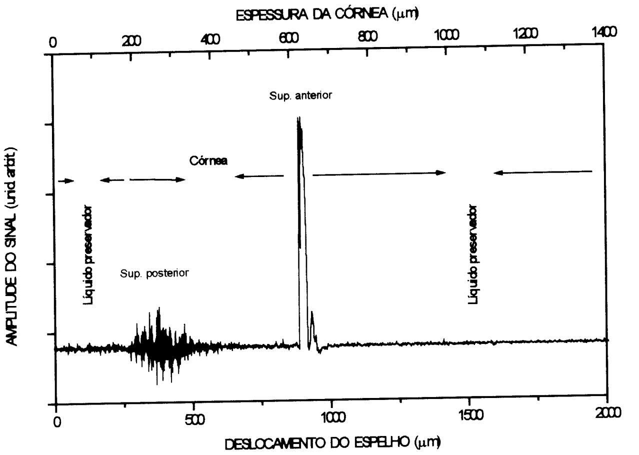

Figura 8: Interferograma de córnea humana, in-vitro, com oito dias de preservação.

Sondagens em níveis mais profundos são plenamente possíveis, mantendo ainda a resolução de medida, conforme pode-se observar nas figuras 9 e 10. O interferograma da figura 9 mostra a sondagem feita na região de cristalino do globo ocular de coelho. Neste caso, foi necessário fazer uma redução de escala tendo em vista que as distâncias envolvidas são significativamente maiores que a espessura da córnea. Para efeito de comparação, entretanto, a escala de distância foi ampliada apenas em cima do pico correspondente à superfície que faz interface entre o cristalino e o humor aquoso. Outro fator interessante a ser observado é que, o cristalino é heterogêneo em sua constituição. Ele é constituído por um núcleo e uma cápsula com índices de refração diferentes. De acordo com as avaliações feitas por biometria ultrasônica o índice de refração do núcleo é de 1,40 enquanto o índice de refração da parte externa é de 1,38[7]. Desta forma, para se calcular as distâncias com precisão, é necessário considerar a variação do índice de refração "n". Assim, a escala horizontal inferior deve ser dividida pelo índice de refração correspondente à região analisada, núcleo ou cápsula externa. Finalmente, o resultado da figura 10 contem informações do humor vítreo apenas de um comprimento de 0,6 mm. Não obstante, toda a região do vítreo pode ser monitorada e reconstituída num único interferograma, se for necessário. O pico à direita corresponde a posição da retina. O lado direito do pico, após seu decaimento, corresponde apenas ao ruído de fundo, já que o feixe de laser não sofre reflexão na coróide opaca.

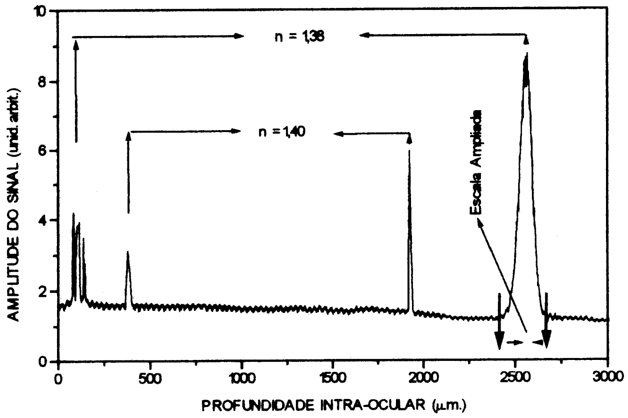

Figura 9: Interferograma da região de cristalino do globo ocular de coelho, obtido 4 horas após o sacrifício. Neste gráfico a escala de profundidade ocular foi ampliada, em cima do pico da extrema direita, objetivando visualizar a diferença de definição entre as medidas feitas na região da córnea.

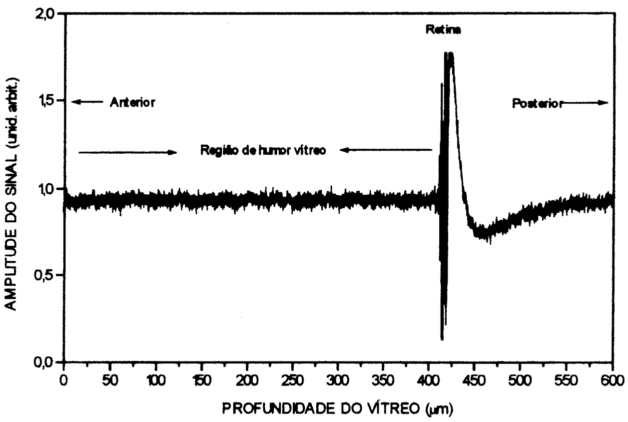

Figura 10: Interferograma da região do vítreo, mostrando em detalhe o pico correspondente ao reflexo devido as camadas da retina.

VII. Conclusão

Os resultados apresentados demonstram claramente a viabilidade da técnica sob dois aspectos. O primeiro reside na apresentação sistemática, semelhante à biometria ultra-sônica, já que esta também apresenta-se sob a forma de picos. O segundo aspecto diz respeito a uma boa definição dos picos em cada interface. Isto significa que dispomos de um método, cuja maneira de interpretar os resultados é igual ao da biometria ultrasônica linear, com precisão no mínimo comparável. O mais interessante, porém, num resultado como o da figura 9, é que ele parece conter informações da espessura da retina. Em outras palavras, a variação de amplitude sob a forma de picos bem finos, conforme se pode ver no lado esquerdo, registra informações a nível de variação do índice de refração. Estas informações podem ser usadas para se processar uma reconstituição da estrutura da retina em direção de sua espessura, ou seja, efetuar o que é conhecido como biometria bidimensional. Procedimento como este permite obter imagens tomográficas de retina com a ajuda de uma infra-estrutura em processamento de imagens com software adequado[8].

Embora, nossos experimentos preliminares tenham sido feitos *in-vitro,* tecnicamente é possível realizar todas estas medidas *in-vivo.* Esta tarefa deverá ser feita com auxílio de fibras ópticas para que o alinhamento com o olho do paciente seja facilmente otimizado. Esperamos em breve apresentar resultados obtidos com seres humanos, sob condições controladas, para procedimentos de comparação com a biometria ultra-sônica.

References

1. T. N. Folmer, Instrumentos de óptica. Em: Elementos de Optica. Folmer-Johnson, 1959: 150.
2. S. Franken, Measuring the lengh of the eye with the help of ultrasonic echo. Ophthalmologica **143**, 82 (1962).
3. J. G. Fugimoto et al., Fentosecond optical ranging in biological systems. Optics letters **11**, 150 (1986).
4. A. F. Fercher et al., Eye-length measurement by interferometry with partially coherent light. Optics Letters **13**, 186 (1988).
5. F. L. Pedrotti, L. S. Pedrotti, Coherence. In: Introduction to Optics. New Jersey: Prentice-Hall, 1987, 316-335.
6. S. A. Tonissi, Instrumentação Eletrônica para Pesquisas na Área de Óptica. Tese de Dissertação de Mestrado 933, IFSC-DFCM-USP, 1992.
7. F. L. Pedrotti, L. S. Pedrotti, *Lasers aplications. In: Introduction to Optics.* New Jersey: Prentice-Hall, 1987: 176-184.
8. J. A. Izatt et al., Micro resolution biomedical imaging with optical coherence tomography. Optics 7 Photonics News **4**, 14 (1993).